

学校编码: 10384  
学号: 21720091152194

分类号\_\_密级\_\_  
UDC\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

# Sema3C 对乳腺癌血管新生和侵袭转移的影响

**Roles of Sema3C on Breast Cancer Angiogenesis  
And Metastasis**

叶丽颖

指导教师姓名: 袁 立 教 授  
专 业 名 称: 细胞 生物学  
论文提交日期: 2012 年 05 月  
论文答辩时间: 2012 年 06 月  
学位授予日期: 2012 年 月

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_  
评 阅 人: \_\_\_\_\_

2012 年 6 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（        ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于        年        月        日解密，解密后适用上述授权。

（        ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年    月

# 目录

目录 .....	I
目录（英文） .....	III
摘 要 .....	1
摘要（英文） .....	2
前言 .....	4
1.1 肿瘤血管新生的研究进展 .....	4
1.2 神经导向因子 Semaphorins 及其受体 neuropilins、plexins 的结构与功能.....	6
1.3 Sema3C 在发育过程中的作用 .....	12
1.4 研究的意义.....	13
实验材料与仪器设备 .....	15
2.1 材料与试剂.....	15
2.2 主要仪器.....	17
2.3 试剂配方.....	17
2.4 载体图谱.....	20
实验方法 .....	23
3.1 hSema3C 基因的克隆 .....	23
3.2 hSema3C 表达载体与 RNAi 载体构建 .....	26
3.3 病毒的包装、浓缩与滴定 .....	31
3.4 hSema3C 突变表达载体的构建 .....	32
3.5 细胞免疫荧光（ICH） .....	34
3.6 免疫印迹.....	34
3.7 Real Time PCR 技术 .....	36
3.8 裸鼠实验.....	37
3.9 细胞粘附、增殖、迁移和侵袭实验 .....	40
结果与分析 .....	42
4.1 配体 Sema3C 及其受体乳腺癌中的表达 .....	42
4.2 hSema3C 基因表达载体及干扰载体的构建 .....	43
4.3 hSema3C 过表达乳腺癌细胞系的建立 .....	46
4.4 hSema3C RNAi 载体沉默效果检测及 RNAi 细胞系的建立 .....	47
4.5 裸鼠皮下成瘤实验.....	50
4.6 裸鼠体内肿瘤细胞转移性实验 .....	53
4.7 Sema3C 对细胞迁移、侵袭、粘附与增殖的影响 .....	54

4.8 Sema3C 对人内皮细胞中的影响 .....	61
讨论 .....	63
引用文献 .....	67
致谢 .....	74

厦门大学博硕士论文摘要库

## CONTENTS

CONTENTS(CHINESE) .....	I
CONTENTS(ENGLISH) .....	III
ABSTRACT(CHINESE).....	1
ABSTRACT(ENGLISH) .....	2
INTRODUCTION .....	4
1.1. Recent researchs on tumor angiogenesis.....	4
1.2. tructure and function of Neural guidance factor Semaphorins and their receptors neuropilins and plexins .....	6
1.3. Function of Sema3C in the development .....	12
1.4. Significance of research .....	13
MATERIALS AND EQUIPMENT .....	15
2.1.Materials and Reagents .....	15
2.2.Equipment.....	17
2.3.Reagents Formula .....	17
2.4.Vector Map.....	20
METHODS.....	23
3.1.Cloning of human Sema3C.....	23
3.2.Vector construction .....	26
3.3.Virus packaging、concentrating and titering .....	31
3.4.Construction of hSema3C-Mutations expression vectors .....	32
3.5.Immune Cellular fluorescence (ICH) .....	34
3.6.Immunoblotting.....	34
3.7.Real Time PCR technology .....	36
3.8.In vivo Experiment with nude mice.....	37
3.9.Cell adhesion, proliferation, migration and invasion assay .....	40
RESULTS AND ANALYSIS.....	42
4.1 Expression of ligand sema3C and its receptors in breast cancer cells .....	42
4.2 Construction of overexpression and RNAi vectors of human hSema3C .....	43
4.3 Establishment of breast cancer cell lines with overexpression of Sema3C .....	46
4.4 Detection of hSema3C-RNAi efficiency and establishment of knock down Sema3C cell lines .....	47
4.5 Subcutaneous tumor growth study in nude mice .....	50

4.6 Tumor metastasis study in nude mice.....	53
4.7 Impacts of sema3C on cell migration, invasion, adhesion and proliferation.....	54
4.8 Impacts of Sema3C on human endothelial cells.....	61
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>63</b>
<b>REFERENCES .....</b>	<b>67</b>
<b>Acknowledgments.....</b>	<b>74</b>

## 摘 要

神经系统的发育依赖于一系列导向系统的控制。近年来的研究结果表明，神经导向系统不仅调控神经系统的发育，在血管新生和肿瘤发展等方面也发挥着重要的调控作用。神经生长导向因子 Class 3 semaphorins (Sema3s) 是脊椎动物中 semaphorin 家族中唯一的一个分泌型亚族。在 Sema3s 家族中的大部分成员在肿瘤发展过程中起抑制作用，而 Sema3C 却可能是一个促进肿瘤发展的因子。目前对于 Sema3C 在肿瘤中的作用主要集中在对肿瘤迁移、侵袭的影响等方面，对于肿瘤血管新生的影响还未见报道。

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一，我们发现 Sema3C 在几种乳腺癌，特别是 ZR-7530 细胞株中高表达。为进一步研究 Sema3C 在肿瘤生长过程中的作用，我们分别建立过表达和基因沉默 Sema3C 的乳腺癌细胞系，研究 Sema3C 对乳腺癌细胞的增殖、迁移及血管新生的影响。裸鼠体内肿瘤细胞转移性实验，发现 Sema3C 基因沉默的乳腺癌细胞系转移能力增强。通过体外细胞生物学实验，表明 Sema3C 基因沉默显著降低了乳腺癌细胞的粘附力，进而促进了乳腺癌细胞的迁移和侵袭，而过表达 Sema3C 则相反，提高细胞的粘附力而抑制细胞的迁移。裸鼠成瘤实验结果显示，Sema3C 基因沉默的乳腺癌细胞可促进肿瘤生长，而过表达 Sema3C 则抑制肿瘤生长。通过实验性肿瘤病理学研究分析，发现 Sema3C 基因沉默的乳腺癌细胞形成的肿瘤血管密度显著高于对照组，而 Sema3C 过表达的乳腺癌细胞形成的肿瘤血管密度则低于对照。在对内皮细胞体外研究中，人的重组蛋白 Sema3C 对于内皮细胞的增殖无显著影响，但 Sema3C 可显著排斥内皮细胞向其迁移。

因此，在乳腺癌中，Sema3C 表现出抗致肿瘤性，而不是促致肿瘤性，这些影响很可能和它对血管新生的作用相关。Sema3C 在肿瘤发展机制与抗肿瘤血管新生中的作用需要进一步的研究。

**关键词：**神经导向因子；Sema3C；肿瘤血管新生



## Abstract

The development of nervous system depends on the regulation of a series of guiding mechanisms. Recently, accumulating evidence shows that neural guidance molecular systems not only control the axon outgrowth direction, but also play an important role in angiogenesis and tumor development. Neural guidance molecules, Class 3 semaphorins (Sema3s) are the only secreted subgroup of the neural guidance molecular family of semaphorins, which constitute about 30 members in vertebrate. Most of Sema3s family members showed inhibition effects in cancer development; Sema3C, however, had probably been reported to be pro-tumorigenic. At present, most studies on Sema3C in tumor have focused on tumor migration and invasion, little is known about its role in tumor angiogenesis.

Breast cancer is one of the most common malignancies in women. We find that Sema3C is up-regulated in several breast cancer cell lines, especially in ZR-7530 cell lines. To explore the function of Sema3C in the development of breast cancer, we established Sema3C silenced or over-expressed cell lines and utilized to examine the effects of Sema3C on proliferation, adhesion, migration and angiogenesis in the experimental tumor from these cancer cells. In the study of tumor metastasis in nude mice, enhanced capability of metastasis was observed with Sema3C silenced cells. In vitro, Sema3C silence significantly reduced the adhesion and promoted migration; while Sema3C over-expression enhanced adhesion and inhibited migration. Xenograft tumor growth studies showed that Sema3C silence promoted tumor growth; and Sema3C over-expression inhibited tumor growth. Pathological study experimental tumor revealed that the microvessel density in tumors formed by Sema3C silenced cells was significantly higher than those in the control group, whereas Sema3C over-expressed cells were on the contrary. In studies with cultured endothelial cells, human recombinant Sema3C protein had none significant effect on cell proliferation. However, Sema3C significantly repelled migration of these cells.

In conclusion, we demonstrated instead of pro-tumorigenic, Sema3C appeared, at least in breast cancers, anti-tumorigenic, and such effects were most probably associated with its impacts on angiogenesis. Further research is needed on the mechanisms of Sema3C actions on tumor progress and tumor angiogenesis.

**Key words:** Neural Guidance Molecules; Sema3C; Tumor angiogenesis

厦门大学博士论文摘要库

## 前言

### 1.1 肿瘤血管新生的研究进展

在肿瘤演进过程中，虽然一系列致癌性的事件可能允许癌细胞逃脱监视，或者提高它们的存活率，但是肿瘤大规模地生长最终需要有血液的提供<sup>[1]</sup>。因此肿瘤内部血管的形成对肿瘤的生长具有重要作用。Judah Folkman 首次揭示了肿瘤的形成及其转移过程中肿瘤细胞远距离地定位受到血管新生的限制<sup>[2]</sup>。肿瘤的生长过程分为无血管期（avascular stage）和血管期（vascular stage）<sup>[3]</sup>。在无血管期，肿瘤的生长依赖于周围原有血管系统提供血液，肿瘤细胞处于休眠状态即在这个阶段新分裂产生的肿瘤细胞和细胞程序性死亡或者凋亡之间维持平衡状态<sup>[4]</sup>。但当肿瘤体积生长超过了  $2\text{mm}^3$  时，已存在的血管结构无法满足肿瘤生长的需要，从而出现缺氧现象。缺氧刺激血管产生分支，进一步诱导肿瘤边缘产生新的血管来提供血液。这已在肿瘤细胞的实验模型中得到验证<sup>[5]</sup>。

传统的观点认为典型的肿瘤血管新生是由原本存在的血管分支形成新的血管；深入的研究发现主要来源于骨髓释放入循环血液中的血管内皮前体细胞(EPCs)也积极参与肿瘤血管新生，肿瘤血管甚至可能由肿瘤干细胞分化产生（血管拟态（vascular mimicry））。肿瘤血管形成过程主要包括血管内皮细胞激活，对基底膜与细胞外基质降解，血管内皮细胞在基质中迁移、增殖，形成血管延伸至实体瘤内部<sup>[6]</sup>。此外，肿瘤血管形成方式还有内皮祖细胞的募集和血管拟态。在成体中，骨髓源的内皮前体细胞移动到血管新生的位置并融入其中形成新的血管。Isner 等首次从外周血中分离出内皮祖细胞（EPC）。内皮祖细胞在体外分化成成熟的内皮细胞，在体内能参与局部出血损伤引起的血管扩张生长<sup>[7]</sup>。随之 Rafi 等证明损害骨髓源内皮细胞和造血前体细胞会阻止肿瘤血管新生和生长，双重阻断 VEGFR1 和 VEGFR2 限制了从骨髓中募集细胞以及它们参与到肿瘤血管中，首次证明了肿瘤中的血管生长涉及到血管发生（vasculogenesis）和血管新生（angiogenesis）<sup>[8]</sup>。越来越多的临床研究表明内皮细胞产生并释放能吸引循环中的茎（stem）和祖细胞的各种不同的生长因子和 Notch 配体，从而以这种内分泌性血管障碍的方式积极地募集骨髓源细胞<sup>[9,10]</sup>。用抗血管生成药物或者通过基因操纵来防止各种不同的骨髓源细胞迁移会减少血管生成反应、肿瘤治疗的敏感性，并且会在多种临床模型中限制肿瘤转移<sup>[11-16]</sup>。已有一些证据支持了血管拟态这一概念，这个概念最初由 Hendrix 和她的同事提出，是指肿瘤源细胞分化形成的、能增强血管生成反应的血管通道<sup>[17]</sup>。

虽然血管模拟的概念遭到一些质疑<sup>[18-22]</sup>，但是一个黑色素瘤患者的血管造影术研究显示了在眼睛里血液循环发生在这样的血管里<sup>[23]</sup>。虽然这是一个罕见的肿瘤类型，但已证实确实存在这种另类的血管网。虽然最近有许多研究支持了肿瘤干细胞参与这个过程的观点<sup>[24]</sup>，但是血管拟态在癌症中的存在及其功能仍存在争议。

尽管肿瘤血管新生可能存在更复杂的机制，但与正常组织的血管化一样，建立在原有组织血管上的血管新生仍然是肿瘤组织血管形成的主要途径。血管新生即已存在的血管发芽（sprouting）、分支（splitting）形成新血管，初始的血管网络生长与重建（remodeling）形成相互连接的具有各级分支的成熟的血管网络。血管新生的基本信号通路通过激活诱导内皮细胞实现：内皮细胞和它们周围的细胞分离，向促血管新生的因子方向分支，增殖形成暂时性的血管，募集血管周细胞，使血管稳定成熟，最后，重建并修剪形成新的血管网。在这个过程中，其基本信号通路主要涉及四类：血管内皮细胞生长因子（VEGF）、血小板衍生生长因子（PDGF）、血管生成素（Angiopoietin，简作 Ang）及其受体（Tie）、转化生长因子  $\beta$  1（transforming growth factor  $\beta$  1, TGF- $\beta$  1）。VEGF 在血管生成中发挥了主导作用。VEGF 及其受体的信号转导，在血管内皮细胞的增殖与分化以及装配成管的过程中都发挥着关键的作用<sup>[25,26]</sup>。缺乏这一信号转导，血管生成不能发生。PDGF 信号通路在血管壁细胞的募集中发挥了关键的作用。组成新生血管的内皮分泌的血小板衍生生长因子 PDGF，PDGF-BB 将表达其受体的间质细胞募集到血管并影响其增殖与分化，形成血管壁平滑肌细胞（VSMC）<sup>[27]</sup>。Ang 及其受体 Tie 控制着血管内皮细胞与血管壁细胞间的关系，决定新生血管的发展命运<sup>[28,29]</sup>。募集到血管的血壁细胞分泌的血管生成素 1（Ang1）作用于内皮细胞上的受体 Tie2，使得血管内皮细胞与血壁细胞紧密关联，新生血管得以稳定并发育成熟；而血管生成素 2（Ang2）与 Tie1 结合则解除这种稳定，导致新生的血管不能发育成熟，或成熟血管解体，其血管内皮细胞在 VEGF 的作用下，进行新的血管生成。TGF- $\beta$  1 在血管成熟中发挥着重要作用<sup>[30]</sup>。血管内皮细胞等分泌 TGF（主要是 TGF- $\beta$  1），作用于募集到血管的血壁细胞，在它们增殖与分化为 VSMC 过程中发挥作用，随着 VSMC 的分化成熟和基质的形成，血管发育成熟。自从神经导向因子 Netrin-1/Unc5b 调控系统参与血管生长的导向控制在 2004 年被证实以来，血管系统生长发育存在与神经生长发育类似的导向控制机制成为新的认识，这为血管发育的分子机制探讨提供了新的思路。神经生长导向因子的研究已经比较深入，主要是通过四个分子调控系统对其生长发生吸引性和排斥性引导作用来完成，包括：Netrin/Unc-DCC(Uncoordinated, Deleted-in-Colorectal-Cancer)；Slit/Robo(Roundabout)；Semaphorin/Plexin-Nrp(Neuropilin) 和 Ephrins/Eph 等配体/受体系统。这些因子同时也在肿瘤

中表达。越来越多的证据证明它们对血管长入肿瘤组织起了重要的引导作用。Semaphorins 作为神经生长导向因子在许多发育过程，特别是在细胞的迁移<sup>[31]</sup>、免疫反应<sup>[32]</sup>和器官形成<sup>[33]</sup>等过程发挥作用。一些 semaphorins 如最初发现 Sema3B<sup>[34]</sup>和 Sema3F<sup>[35]</sup>和肿瘤形成相关，深入研究发现一些其他的 semaphorins 也在肿瘤发展过程中起调控作用。因此，semaphorin 家族在肿瘤发展过程中的作用，可能成为肿瘤治疗的一个新的靶点，对其深入研究可能对肿瘤的治疗提供新的思路。

## 1.2.神经导向因子 Semaphorins 及其受体 neuropilins、plexins 的结构与功能

### 1.2.1 The Semaphorins

Semaphorin 家族包括了 30 个基因，至今仍有新的家族成员发现，如 Sema6E<sup>[36]</sup>。最初在神经系统中发现其可以控制中枢神经系统发育，属于神经导向生长因子，是一类细胞表面可溶性的蛋白质家族<sup>[37]</sup>。根据其结构特点（如图 1.1），可分为八个亚族，第一（Sema1s）及第二亚族（Sema2s）第八亚族（Sema8s）的 Semaphorins 分别存在于无脊椎动物和病毒中，第三（Sema3s）至第七亚族（Sema7s）的 Semaphorins 在脊椎动物中发现。Semaphorins 存在一个约 500 个氨基酸大小的 Sema 结构域，这个结构域临近其基序的氨基酸末端；而许多 Sema3s 的 Sema 结构域中延伸约 70 氨基酸大小的结构有特异性的生物活性和结合特异性<sup>[33,38]</sup>。Sema 结构域主要存在于 Semaphorin、受体 plexin 和 MET 和 RON 受体酪氨酸激酶(RTKs)中<sup>[38]</sup>。Sema 结构域实际上包括了两部分：Sema 结构域本身以及一个小的 cys 富集结构域（CRD）。通过 X 射线发现 Sema3A 和 Sema4D 中 Sema 结构域是一个 seven-blade  $\beta$ -propeller 的结构<sup>[38-40]</sup>。Semaphorins 一般作用于肌动蛋白细胞骨架和黏着斑；此外还有细胞动态和细胞外基质粘附结构，这些作用一般和 integrin 相关。Semaphorin 信号影响黏着斑组装/去组装和诱导细胞骨架重塑，从而影响细胞形状、粘附到细胞外基质、细胞能动性和细胞迁移<sup>[41,42]</sup>。许多 Semaphorins 既有吸引作用又有排斥作用，这取决于细胞类型和生物进化关系<sup>[43,44]</sup>（如图 1.2）。

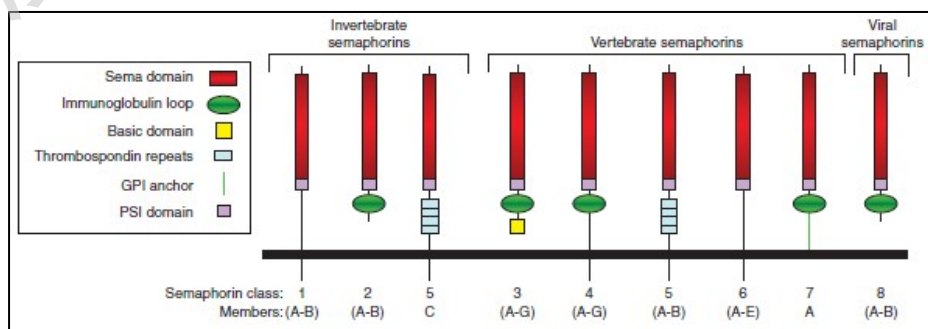


图 1.1 Semaphorin 家族的成员和结构。引自 Gera Neufeld et al.<sup>[45]</sup>, 2008

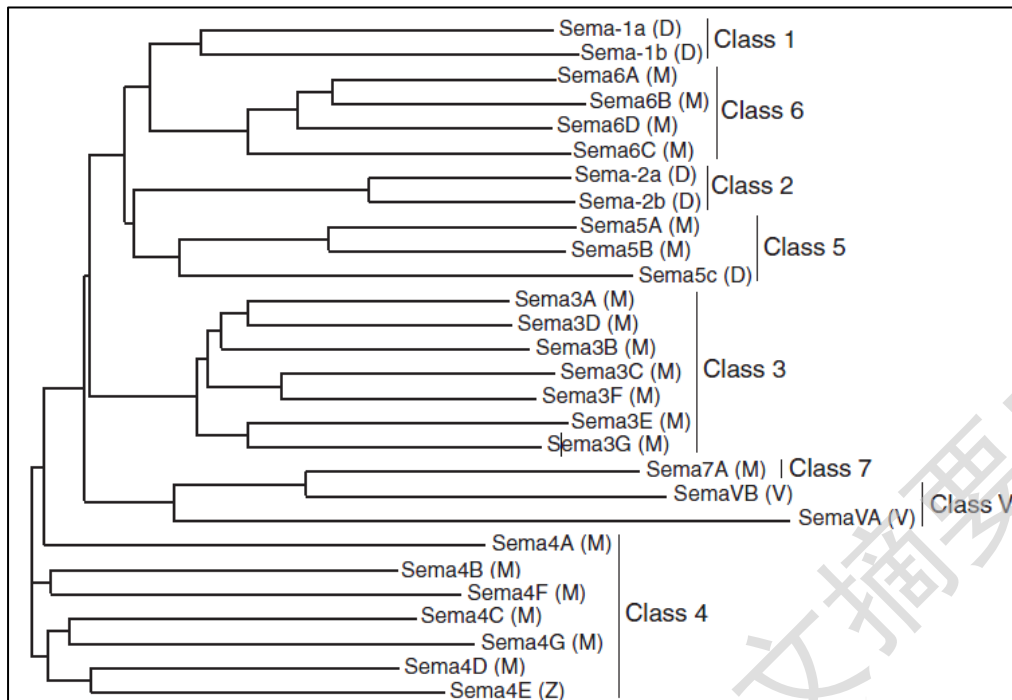


图 1.2 Semaphorin 家族在生物进化树上的关系。引自 Echmann et al.<sup>[44]</sup>, 2005

Sema3s 是 Sema3 亚族在脊椎动物中唯一一个分泌型的蛋白，其 C-末端有一个高度保守的基本结构域（basic domain）。其他亚族的 Semaphorins 是膜——锚定或者跨膜蛋白形式存在，这些蛋白需要进一步被剪切才能形成可溶性蛋白。因此，Sema3s 是 Semaphorins 中功能活跃的亚家族，它们可以直接扩散而在近、远距离部位发挥效应。Sema3s 上有两个保守的 furin-like pro-protein convertases 剪切位点，可以被剪切加工<sup>[46]</sup>。Furin-like pro-protein convertases 在许多癌症中和增加侵袭及增值作用相关<sup>[47]</sup>。Sema3s 和 Sema6s 通常是以同源二聚体的形式来行使其功能活性<sup>[48-51]</sup>，由此推测可能所有有活性的 Semaphorins 都是同源二聚体的形式存在，但这个假设仍需进一步的验证。

### 1.2.2 受体 plexins 和 neuropilins

Sema3s 的受体主要有两大受体家族，即 plexins 和 neuropilins (Nrps) (如图 1.3)。Neuropilin 家族有两个成员。Nrp1 是一种细胞表面蛋白，和神经元的识别有关<sup>[52,53]</sup>。随之证实 Nrp1 是 Sema3s 中 Sema3A 的受体<sup>[54,55]</sup>，而 Nrp2 是 Sema3s 中 Sema3F 的受体<sup>[55,56]</sup>。但 Nrps 细胞内的结构域很短，所以无法单独介导 Semaphorins 的细胞信号传导。因此推测，除了 neuropilins 外，Sema3s 的受体还需要有能独立传导细胞信号的成员。这些信号传导的复合物被证明是 plexin 家族的成员<sup>[57,58]</sup>。

#### 1.2.2.1 neuropilins

Nrps 是跨膜蛋白，有一个小的约 40 个氨基酸的细胞质的结构域，并且其 C-末端三个氨

基酸(S-E-A)构成一个PDZ结合基序<sup>[59]</sup>。Nrps包含两个补体结合结构域(a1和a2结构域),两个凝集因子V/VIII同源结构域(b1/b2)和一个MAM结构域(c)(如图1.3)。Sema3s结合了Nrps之后,需和plexins结合形成共同受体(co-receptor),在器官形成、细胞迁移和细胞免疫等方面起到了重要的作用。除了Sema3s外,Nrps也可作为VEGF家族蛋白的受体,和VEGFR形成共同受体,促进血管新生和淋巴新生。Sema3s最主要和a1/a2结构域结合<sup>[60-62]</sup>,VEGFs结合到b1/b2结构域<sup>[62,63]</sup>。因此VEGF-A和Sema3A在结合Nrp1水平没有直接的竞争关系,但这个问题仍存在争议。基因研究表明Nrp1对血管形成是必需的。Nrp1敲除小鼠由于血管重塑和分枝缺陷而导致胚胎致死<sup>[64,65]</sup>。部分Nrp2敲除小鼠能够存活并且它们没有明显的血管缺陷,但Nrp2裸鼠在发育过程中出现淋巴血管分枝缺失或是缺失的现象<sup>[66]</sup>。这说明Nrp1和Nrp2在血管和淋巴管系统的发育中有选择性的重要功能作用。

### 1.2.2.2 plexins

Plexin家族是单跨膜蛋白受体,共有九个成员,分为四类,A、B、C和D(如图1.3)<sup>[67,68]</sup>。和Semaphorins类似,plexins有细胞外的Sema结构域。此外,plexin有PSI(plexins、Sema、integrins)和IPT(Ig-like、plexins和transcription factors)结构域,并且细胞外片段和Met家族酪氨酸受体有同源片段。Sema4s到Sema7s和Sema3S中的Sema3E直接和特异性的plexins结合<sup>[69]</sup>,并激活plexin介导的信号传导;其他的Sema3s不直接结合plexins而和Nrps结合<sup>[57,58]</sup>。Nrps和A型的plexins或plexinD1形成复合物传导信号(如图1.4)。Plexins细胞内的结构域有分裂的细胞质的GTPase激活蛋白(GAPs)的序列,并对小GTPase R-Ras具有GAP活性<sup>[70]</sup>。由Semaphorins激活的plexin信号通路如Sema4D激活的受体plexinB1的GAP结构域,导致R-ras的失活,最终导致粘附力下降<sup>[71]</sup>。A型的plexins的激活能产生相同的效果<sup>[72]</sup>。A型的plexins的激活导致Mical酶家族的激活,这些酶能产生氧化还原酶反应,并对A型plexins下游信号的传导有重要的作用<sup>[73-75]</sup>。

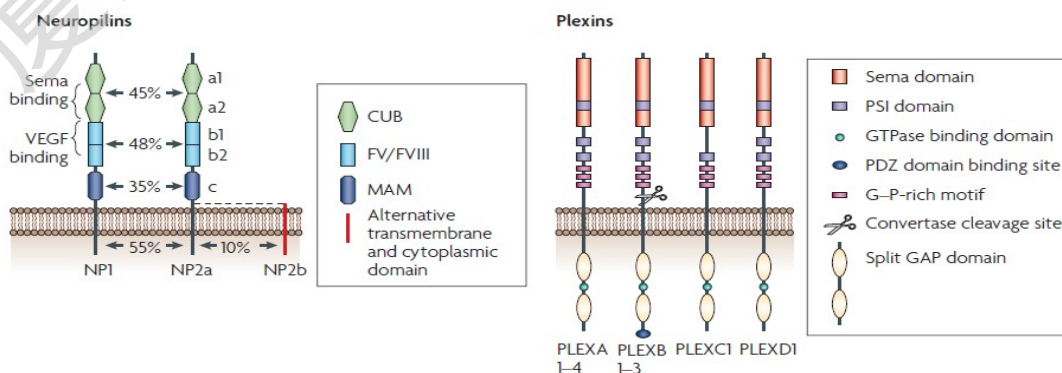


图 1.3 Neuropilins 和 Plexins 的结构图。引自 Gera Neufeld et al.<sup>[45]</sup>, 2008



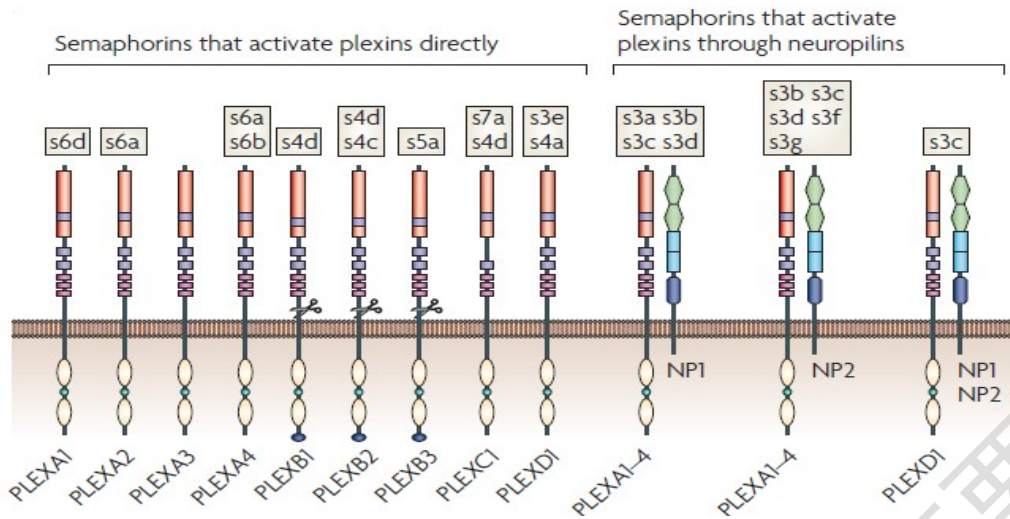


图 1.4 Semaphorins 相互作用的受体。引自 Gera Neufeld et al.<sup>[45]</sup>, 2008

### 1.2.3 Sema3s 在肿瘤血管中的研究

Sema3s 是脊椎动物 Semaphorin 家族中唯一一类分泌型的 Semaphorins。Nrps 和 plexins 家族中的 A/D 作为 Sema3s 的受体，每个 Sema3 家族的成员结合 Nrps 的偏好性不同。例如 Sema3A 结合 Nrps1<sup>[54,55]</sup>，而 Sema3F 专一性地与 Nrps2 结合<sup>[56]</sup>。其他的 Sema3S 如 Sema3B，可以和两个 Nrps 结合<sup>[76,77]</sup>。每个 Sema3-Nrp 复合物（Sema3E 除外）和特异性的 plexins 结合传导下游信号。目前研究表明，Sema3s 不仅调控血管新生，还调控肿瘤发生进程和肿瘤血管新生。

**Sema3A:** 在乳腺癌细胞系的实验中发现，外源的 Sema3A 对肿瘤细胞对细胞外基质的黏附和肿瘤细胞的增殖没有作用，但是能够抑制细胞集落形成和肿瘤诱导的血管密度<sup>[78]</sup>。同时 Sema3A 抑制这些细胞的细胞迁移，其包含 Sema3A, Plexin-A1, Nrp-1 的自分泌途径阻碍细胞趋化<sup>[79]</sup>。进一步的研究显示，Sema3A 增加乳腺癌肿瘤细胞  $\alpha 2\beta 1$  整联蛋白的水平，增强肿瘤细胞对  $\alpha 2\beta 1$  结合机制蛋白胶原 I ( $\alpha 2\beta 1$ -binding matrix protein collagen I) 的黏附；相反的，减少的 Sema3A 表达降低  $\alpha 2\beta 1$  水平和细胞对胶原蛋白的黏附。用 Sema3A 培养乳腺癌肿瘤细胞会破坏肌动蛋白骨架并同时降低肿瘤细胞迁移和扩散行为<sup>[80]</sup>。

外源性的 Sema3A 能够拮抗多发性骨髓瘤内皮细胞 (multiple myeloma endothelial cell, MMEC) 的过度血管化潜力<sup>[81]</sup>。在针对正常的间皮细胞 (normal mesothelial cell, NM cell) 以及恶性的间皮细胞 (malignant mesothelial cell, MM cell) 的实验中，p38 MAPK 介导的 VEGF 功能造成 Sema3A 的表达停止，引起 VEGF 介导的肿瘤细胞生长<sup>[82]</sup>。VEGF165 和 Sema3A 同时是结肠癌细胞的促侵入因子 (proinvasive factors)。在 HCT8/S11 中，由 VEGF165 和 Sema3A 诱导的胶原蛋白入侵实验 (collagen invasion assay) 需要 p42/44 MAPK 并且分别通过



Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.